# 乳酸菌和纤维素酶对不同含水量紫花苜蓿青贮品质的影响

钟 书 张晓娜 杨云贵* 杨雨鑫*

(西北农林科技大学动物科技学院，杨凌 712100)

摘 要：本试验旨在探讨含水量和添加剂对紫花苜蓿青贮品质的影响，以期解决苜蓿青贮困难的问题，提高其青贮品质。采用双因素（含水量×添加剂）完全随机设计，含水量分别为70%和60%；添加剂分4个组，对照组不含添加剂，其余各组均含3个水平，分别为乳酸菌组(LA组，3、6、9 mg/kg)、纤维素酶组(CE组，25、50、100 mg/kg)以及乳酸菌和纤维素酶混合组(LA×CE组，3×25、6×50、9×100 mg/kg)，每个组3个重复，共20个组。青贮90 d后，测定其粗蛋白质（CP）、粗纤维（CF）、中性洗涤纤维(NDF)、酸性洗涤纤维(ADF)、可溶性糖(WSC)含量及pH、氨态氮/总氮(AN/TN)。结果表明：与对照组相比，各LA组均显著提高了青贮料的WSC含量($P$＜0.05)，显著降低了青贮料pH($P$＜0.05)；且6 mg/kg LA组青贮料的CP和WSC含量高于3和9 mg/kg LA组，pH低于3和9 mg/kg LA组。与对照组相比，各CE组均显著降低了青贮料的ADF含量和pH($P$＜0.05)，且50 mg/kg CE组青贮料的ADF含量和pH低于25和100 mg/kg CE组。各LA×CE组青贮料的CF、ADF含量和pH大部分低于各LA和CE组，WSC含量均高于各LA组和CE组，且6×50 mg/kg LA×CE组青贮料的CF、ADF、WSC含量和pH与各LA和CE组差异显著($P$＜0.05)。除9 mg/kg LA组和100 mg/kg CE组外，相同添加剂下70%含水量青贮料的CP含量显著低于60%含水量($P$＜0.05)；相同添加剂下70%含水量青贮料的CF和ADF含量显著高于60%含水量($P$＜0.05)。由此可见，乳酸菌和纤维素酶及两者复合添加均对苜蓿的青贮品质有明显的改善作用，并以添加6×50 mg/kg乳酸菌和纤维素酶效果最好，且60%含水量下的青贮效果更优。

关键词：苜蓿青贮；含水量；乳酸菌；纤维素酶

中图分类号：S816.5+3

紫花苜蓿(*Medicago sativa* L.)是一种高产优质的豆科牧草，含有丰富的蛋白质、氨基酸、维生素和矿物质，且能值较高，具有良好的营养价值、饲用价值和药用价值[1-2]，因此在世界范围内种植广泛。苜蓿生产对于畜牧业的发展有极大影响，近年来我国逐渐开始重视畜牧

---

收稿日期：2016-11-15

基金项目：国家牧草产业技术体系(CARS-35-01A)；国家绒毛用羊产业技术体系(CARS-40-13)；国家燕麦产业技术体系(CARS -08-D1)

作者简介：钟 书(1993-)，女，四川成都人，硕士研究生，研究方向为动物营养与饲料科学。E-mail: suvi@nwafu.edu.cn

*通信作者：杨云贵，副教授，硕士生导师，E-mail: yungui@nwsuaf.edu.cn；杨雨鑫，副教授，硕士生导师，E-mail: yangyuxin2002@126.com

业，因此苜蓿生产也有了一定规模[3]。

在我国东北和华北等苜蓿主产区由于收获时雨淋造成的损失颇大，因此多采用青贮技术来解决苜蓿保存的问题。青贮作为一种常见的加工技术，能保持青绿饲料的营养，使其适口性好，消化率高，增加其供应时间，但苜蓿蛋白质含量高，可溶性碳水化合物及干物质含量低，缓冲容量高，难于青贮成功[4-5]。青贮添加剂可以有效解决此类问题，常用的青贮添加剂有发酵促进剂、发酵抑制剂和营养性添加剂等。乳酸菌作为发酵促进剂，能促使青贮初期尽快进入乳酸发酵阶段，促进葡萄糖等单糖向乳酸转化，使 pH 迅速降低，同时抑制蛋白质水解作用，降低氨态氮、乙酸和丁酸浓度，减少酵母菌和霉菌产生。Tabacco 等[6]将布氏乳杆菌添加到玉米青贮中，发现其有效抑制肠球菌和肺炎克雷伯菌等有害细菌生长，并提高青贮的有氧稳定性。纤维素酶能分解苜蓿中的纤维素、半纤维素和木质素，并能降解结构性糖类成为乳酸菌可利用的可溶性糖（WSC），增加乳酸的发酵底物[7-8]。同时刘振宇等[9]报道，植物细胞壁可经酶制剂降解后被瘤胃微生物利用，使水溶性维生素等有机物的干物质消化率得到提高。含水量对青贮也有较大影响，舒思敏等[10]对扁穗牛鞭草的原料含水量设置 75.3%、64.2%、54.6% 3 个水平，发现中、低含水量下青贮效果好，青贮料 pH 和氨态氮浓度较低，乳酸菌数量较多，杂菌数量少。张英等[11]对不同生长时期的王草设置高、半干、低 3 个含水量青贮，发现半干青贮下王草品质最好。含水量过高或过低均不利于青贮发酵，含水量高会使细胞液糖分过稀，达不到乳酸发酵所需浓度，同时有害菌迅速发酵，青贮品质变差，而含水量过低会抑制部分乳酸菌活性。

目前添加剂在禾本科的青贮中研究较多，近年来各大院校也加强了对提高苜蓿青贮品质的研究，取得一定成果，但针对本试验所使用的添加剂（乳酸菌和纤维素酶）浓度的研究尚不多见。本试验结合生产实际，在不同含水量下的青贮苜蓿中添加乳酸菌、纤维素酶以及二者复合物，通过测定其营养品质和发酵品质等的指标变化，阐明其品质变化规律[12]，并选出效果最佳的调控组合，以期为苜蓿青贮时的所需水分条件和添加剂的添加量提供依据，从而稳定、高效地进行苜蓿青贮生产。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

试验选用苜蓿品种为金皇后，2013 年 3 月 15 日种植于西北农林科技大学草业科学教学试验区，在 2015 年 5 月 7 日(现蕾期)刈割，此时原料品质最好，刈割后分别对含水量为 70%(鲜草)和 60%(阴干 10 h)的样品进行青贮。试验所用乳酸菌(lactic acid bacteria，LA)添加剂来自昆山佰生优生物科技有限公司，主要成分为保加利亚乳杆菌(*Lactobacillus bulgaricus*)和植物

乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*)，每克活菌数为 $10^6$ 菌落形成单位。纤维素酶(cellulase，CE)来自国药集团化学试剂有限公司，相对分子质量为 52 000~61 000，主要含β-葡聚糖酶、β-葡萄糖苷酶和很高活力的木聚糖酶，酶活力超过 15 000 U/g。

1.2　试验设计

采用双因素完全随机设计，一因素为含水量，含 2 个水平，分别为 70%和 60%；另一因素为添加剂，分 4 个组，添加剂量为 0 时作为对照(CK)组，其余各组均含 3 个水平，分别为乳酸菌组(LA 组，3、6、9 mg/kg)、纤维素酶组(CE 组，25、50、100 mg/kg)以及乳酸菌和纤维素酶混合组(LA×CE 组，3×25、6×50、9×100 mg/kg)，共 20 个组，每个组 3 个重复。将原料用铡刀铡成 3~4 cm 的小段，不同浓度的添加剂喷洒于不同含水量的原料上，对照组喷洒蒸馏水，混合均匀后分别装填到 500 mL 的塑料瓶中并压实，盖上内盖，用封口膜缠绕，再盖上外盖，用封口膜二次密封。共 60 个塑料瓶，青贮 90 d。

1.3　试验指标测定

1.3.1　感官评定

按德国农业协会(DLG)青贮饲料感官评定标准及等级，根据气味、状态、色泽进行评分，将青贮饲料评定为优(16～20 分)、可(10～15 分)、中(5～9 分)、下(0～4 分)4 个等级[13]。

1.3.2　指标测定

1.3.2.1　营养指标

粗蛋白质(CP) 含量：将 5 mL 浓硫酸和 0.200 0 g 样品在 350 ℃下消煮 50 min 后加入过氧化氢，待溶液透明时冷却定容，使用意大利 SYSTEA 连续流动化学分析仪来测定样品中的氮浓度[14]。

粗脂肪(EE) 含量：采用索式抽提法，将滤纸包放入抽提腔，倒入石油醚，浸泡过夜后在 50 ℃水浴上加热，反复抽提 6~8 h 后烘干来测得[14]。

粗纤维(CF) 含量：将样品置于玻璃坩埚中，在 SLQ-6CF 测定仪上经 1.25%硫酸和 1.25%氢氧化钠先后消煮后灼烧并烘干来测定[14]。

粗灰分(Ash) 含量：将样品置于坩埚中，在 KSW-4D-11-5 马弗炉 550 ℃下灰化 3 h 后测定[14]。

洗涤纤维含量：用 Van Soest 法在 DGX-9053BC-1 纤维分析仪(购自 ANKOM 公司)上测定。中性洗涤纤维(NDF)：将样品装于滤袋，置于托盘上，与中性洗涤剂、无水亚硫酸钠、热稳定α-淀粉酶一起于消煮器中消煮 75 min，消煮完后热水冲洗 2 次，冷水 1 次，第 1 次冲洗时加入α-淀粉酶，经丙酮浸泡后烘干称重[14]。酸性洗涤纤维(ADF)：操作步骤与 NDF

测定基本相同，但消煮时加入酸性洗涤剂，且冲洗时不加α-淀粉酶[14]。相对饲用价值(RFV)的计算：

RFV=[(88.9-0.779ADF)×120/NDF]/1.29[15]。

1.3.2.2　发酵品质

pH：称取 10 g 样品于 100 mL 锥形瓶中，加入 90 mL 蒸馏水，搅拌混合均匀，封口膜封口，在 4 ℃下静置 24 h，经 4 层纱布过滤后用 FE20K pH 计（METTLER TOLEDO，苏黎世，瑞士）进行测定[10]。

氨态氮/总氮(AN/TN)：使用苯酚-次氯酸钠比色法。总氮是将浓硫酸、高氯酸与样品于 380 ℃消煮 3 h 后，冷却定容到 100 mL 容量瓶，取 2 mL 上清液与等量蒸馏水于 SYSTEA 连续流动化学分析仪上测得。氨态氮是将 KCl 与样品震荡过滤，取滤液 5 mL 于 50 mL 容量瓶，加碱性苯酚溶液和次氯酸钠溶液，用 KCl 定容，静置 1 h 后在 UV-3100 紫外可见分光光度计 560 nm 波长下比色测得[16]。

WSC 含量：用蒽酮比色法。制作葡萄糖标准曲线，将样品加沸水煮沸 10 min，冷却过滤定容，经吸取摇匀后加入蒽酮，在 620 nm 波长下比色测定吸光度来测得[17]。

1.4　数据处理与统计分析

试验数据使用 Excel 2010 进行处理和统计，结果用平均值±标准差(X±SD)表示，采用 SPSS 20.0 进行单因素方差分析(one-way ANOVA)，并用 Duncan 氏法对各组进行多重比较，$P<0.05$ 为差异显著。

2　结果与分析

2.1　苜蓿原料的特性

本试验青贮原料为现蕾期刈割的苜蓿，苜蓿原料的特性如表 1 所示。苜蓿原料含有较高的 CP，含量为 19.94%；CF 含量为 27.95%；EE 含量较低，为 1.77%。苜蓿原料中 NDF 和 ADF 含量分别为 41.96%和 32.95%，RFV 为 140.34%。

表 1　苜蓿原料的特性（干物质基础）

Table 1　The characteristics of alfalfa material (DM basis)　　%

| 项目 Item | 粗蛋白质 CP | 粗纤维 CF | 粗脂肪 EE | 中性洗涤纤维 NDF | 酸性洗涤纤维 ADF | 相对饲用价值 RFV |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 含量 Content | 19.94±0.86 | 27.95±0.59 | 1.77±0.22 | 41.96±1.30 | 32.95±0.33 | 140.34±4.51 |

2.2　不同含水量及添加剂浓度对青贮苜蓿营养价值的影响

表 2　不同含水量及添加剂浓度对青贮苜蓿营养成分的影响

Table 2　Effects of different moisture and additive concentration on nutrient component of alfalfa silage　%DM

| 添加剂 Additive | 浓度 Concentration/(mg/kg) | 粗蛋白质 CP | | 粗纤维 CF | | 粗脂肪 EE | | 粗灰分 Ash | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 70%含水量 70% moisture | 60%含水量 60% moisture | 70%含水量 70% moisture | 60%含水量 60% moisture | 70%含水量 70% moisture | 60%含水量 60% moisture | 70%含水量 70% moisture | 60%含水量 60% moisture |
| 对照 CK | 0 | 21.58±0.11$^{Bf}$ | 23.05±0.02$^{Abcd}$ | 26.55±0.22$^{Aa}$ | 25.72±0.10$^{Ba}$ | 2.85±0.20$^{Ae}$ | 3.10±0.11$^{Af}$ | 11.14±0.08$^{Bc}$ | 11.63±0.14$^{Ab}$ |
| 乳酸菌 LA | 3 | 22.35±0.01$^{Bcd}$ | 22.73±0.06$^{Acde}$ | 26.48±0.56$^{Aab}$ | 25.52±0.45$^{Ba}$ | 2.98±0.09$^{Bde}$ | 3.27±0.11$^{Adef}$ | 10.24±0.11$^{Bg}$ | 11.04±0.13$^{Ac}$ |
| | 6 | 22.71±0.30$^{Bab}$ | 24.12±0.09$^{Aab}$ | 25.49±0.19$^{Acd}$ | 25.46±0.49$^{Aa}$ | 3.50±0.11$^{Abc}$ | 3.49±0.13$^{Acd}$ | 10.45±0.04$^{Bfg}$ | 12.34±0.14$^{Aa}$ |
| | 9 | 22.49±0.08$^{Abc}$ | 22.80±1.35$^{Acde}$ | 26.62±0.44$^{Aa}$ | 25.57±0.21$^{Ba}$ | 3.12±0.10$^{Ade}$ | 3.18±0.09$^{Aef}$ | 12.18±0.07$^{Aa}$ | 10.93±0.03$^{Bcd}$ |
| 纤维素酶 CE | 25 | 21.71±0.17$^{Bf}$ | 22.07±0.08$^{Ade}$ | 25.74±0.09$^{Ac}$ | 24.81±0.11$^{Bab}$ | 3.28±0.12$^{Acd}$ | 3.37±0.08$^{Acde}$ | 10.65±0.03$^{Aef}$ | 10.57±0.01$^{Be}$ |
| | 50 | 22.13±0.05$^{Bde}$ | 24.11±0.31$^{Aab}$ | 24.80±0.21$^{Ae}$ | 23.45±0.04$^{Bcd}$ | 3.63±0.16$^{Aab}$ | 3.58±0.13$^{Abc}$ | 10.79±0.11$^{Ade}$ | 10.71±0.06$^{Ade}$ |
| | 100 | 21.87±0.16$^{Aef}$ | 21.73±0.14$^{Ae}$ | 25.91±0.06$^{Abc}$ | 24.30±1.10$^{Bbc}$ | 3.45±0.09$^{Abc}$ | 3.48±0.09$^{Acd}$ | 10.61±0.18$^{Aef}$ | 10.75±0.00$^{Ade}$ |
| 乳酸菌×纤维素酶 LA×CE | 3×25 | 20.87±0.04$^{Bh}$ | 23.22±0.21$^{Abc}$ | 24.92±0.04$^{Ade}$ | 24.30±0.53$^{Bbc}$ | 3.69±0.08$^{Aab}$ | 3.61±0.10$^{Abc}$ | 11.02±0.22$^{Acd}$ | 10.54±0.26$^{Be}$ |
| | 6×50 | 23.00±0.02$^{Ba}$ | 24.82±0.01$^{Aa}$ | 23.96±0.07$^{Af}$ | 21.83±0.11$^{Be}$ | 3.84±0.18$^{Ba}$ | 4.78±0.12$^{Aa}$ | 12.28±0.10$^{Aa}$ | 11.40±0.04$^{Bb}$ |
| | 9×100 | 21.20±0.09$^{Bg}$ | 22.44±0.11$^{Acde}$ | 24.89±0.18$^{Ade}$ | 22.67±0.19$^{Bde}$ | 3.49±0.11$^{Bbc}$ | 3.78±0.10$^{Ab}$ | 11.89±0.13$^{Ab}$ | 10.21±0.03$^{Bf}$ |
| *P* 值 *P*-value | 含水量 Moisture | <0.001 | | <0.001 | | <0.001 | | <0.001 | |
| | 添加剂 Additive | <0.001 | | <0.001 | | <0.001 | | <0.001 | |
| | 含水量×添加剂 Moisture×additive | <0.001 | | 0.012 | | <0.001 | | <0.001 | |

同行数据肩标不同大写字母表示显著差异($P$<0.05)，同列数据肩标不同小写字母表示显著差异($P$<0.05)。下表同。

Values with different capitals letter superscripts in the same row mean significant difference ($P$<0.05), Values with different small letter superscripts in the same column mean significant difference ($P$<0.05). The same as below.

由表 2 可见，70%含水量青贮时，6 mg/kg LA 组、50 mg/kg CE 组以及 6×50 mg/kg LA×CE 组相比 CK 组均能显著提高青贮料的 CP 和 EE 含量($P<0.05$)，显著降低 CF 含量($P<0.05$)；并且 6 mg/kg LA 组青贮料的 CP 和 EE 含量显著高于 3 mg/kg LA 组($P<0.05$)，CF 含量显著低于 3 和 9 mg/kg LA 组($P<0.05$)；50 mg/kg CE 组青贮料的 CP 含量显著高于 25 mg/kg CE 组($P<0.05$)，CF 含量显著低于 25 和 100 mg/kg CE 组($P<0.05$)；6×50 mg/kg LA×CE 组青贮料的 CP 含量显著高于其他 LA×CE 组($P<0.05$)，CF 含量显著低于其他 LA×CE 组($P<0.05$)。

60%含水量青贮时，6×50 mg/kg 组相比 CK 组能显著提高青贮料的 CP 含量($P<0.05$)，显著降低 CF 含量($P<0.05$)；同时 6×50 mg/kg 组相比其余各组能显著提高青贮料的 EE 含量($P<0.05$)；6 mg/kg LA 组青贮料的 CP 含量显著高于 3 和 9 mg/kg LA 组($P<0.05$)，而 3 组者之间的 CF 含量没有显著差异($P>0.05$)；50 mg/kg CE 组青贮料的 CP 含量显著高于 25 和 50 mg/kg CE 组($P<0.05$)，并且 CF 含量显著低于 25 mg/kg CE 组($P<0.05$)；6×50 mg/kg LA×CE 组青贮料的 CP 和 EE 含量显著高于其他 LA×CE 组($P<0.05$)。

同一添加剂在不同含水量下青贮比较，除 9 mg/kg LA 组和 100 mg/kg CE 组外，其余 60%含水量下青贮料的 CP 含量均显著高于 70%含水量($P<0.05$)。除 6 mg/kg LA 组外，其余 60%含水量下青贮料的 CF 含量均显著低于 70%含水量($P<0.05$)。3 mg/kg LA 组及 6×50、9×100 mg/kg LA×CE 组 60%含水量下青贮料的 EE 含量显著高于 70%含水量($P<0.05$)，而其余各组均无显著差异($P>0.05$)。青贮料的 Ash 含量变化无明显规律。并且，含水量、添加剂及含水量×添加剂对青贮料的 CP、CF、EE 和 Ash 含量均存在显著影响($P<0.05$)。

## 2.3　不同含水量及添加剂浓度对洗涤纤维含量及 RFV 的影响

由表 3 可见，苜蓿中的 NDF 和 ADF 含量可较为准确地反映出饲料本身被家畜利用的真实情况。70%含水量青贮时，各 CE 组和 LA×CE 组以及 6 mg/kg LA 组青贮料的 NDF 和 ADF 含量显著低于 CK 组($P<0.05$)，同时 RFV 显著高于 CK 组($P<0.05$)。3 和 6 mg/kg LA 组青贮料的 ADF 含量显著低于 9 mg/kg LA 组($P<0.05$)。50 mg/kg CE 组青贮料的 ADF 含量显著低于 25 和 100 mg/kg CE 组($P<0.05$)。

60%含水量青贮时，各 CE 组和 LA×CE 组青贮料的 RFV 均显著高于 CK 组($P<0.05$)，而各 LA 组的 RFV 与 CK 组没有显著差异($P>0.05$)。所有添加剂组相比 CK 组均显著降低了青贮料的 ADF 含量($P<0.05$)，但仅 6×50 和 9×100 mg/kg LA×CE 组显著降低了青贮料的 NDF 含量($P<0.05$)。另外，3 mg/kg LA 组青贮料的 ADF 含量显著低于 6 和 9 mg/kg LA 组($P<0.05$)。

同一添加剂在不同含水量下青贮比较，除 CK 组 70%含水量下青贮料的 ADF 含量显著

低于 60%含水量($P<0.05$)、9 mg/kg LA 组 ADF 含量在 2 含水量下差异不显著($P>0.05$)外，其余添加剂组的 60%含水量青贮料的 ADF 含量均显著低于 70%含水量($P<0.05$)。另外 60%含水量下的添加剂组相比 CK 组在青贮料的 NDF 含量上降低了 0~2.1%，RFV 上提高了 2.69%~16.57%；而 70%含水量下青贮料的 NDF 含量则降低了 3.3%~8.05%，RFV 提高了 10.25%~31.68%，可以看出在 70%含水量下添加剂对 NDF、ADF 含量和 RFV 的作用效果明显强于 60%含水量。并且，含水量、添加剂及含水量×添加剂对青贮苜蓿 NDF、ADF 含量和 RFV 均存在显著影响($P<0.05$)。

表 3　不同含水量及添加剂浓度对青贮苜蓿洗涤纤维和相对饲用价值的影响

Table 3　Effects of different moisture and additive concentration on detergent fiber content and relative feeding value of alfalfa silage　　%DM

| 添加剂 Additive | 浓度 Concentration/(mg/kg) | 中性洗涤纤维 NDF | | 酸性洗涤纤维 ADF | | 相对饲用价值 RFV | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 70%含水量 70% moisture | 60%含水量 60% moisture | 70%含水量 70% moisture | 60%含水量 60% moisture | 70%含水量 70% moisture | 60%含水量 60% moisture |
| 对照 CK | 0 | 48.08±0.54$^{Aa}$ | 41.78±0.01$^{Ba}$ | 29.39±0.37$^{Ba}$ | 29.89±0.21$^{Aa}$ | 127.70±1.99$^{Bd}$ | 146.09±0.34$^{Ae}$ |
| 乳酸菌 LA | 3 | 44.78±0.53$^{Ab}$ | 41.78±0.16$^{Ba}$ | 28.88±0.05$^{Ab}$ | 27.57±0.01$^{Bc}$ | 137.95±1.55$^{Bcd}$ | 150.11±0.58$^{Acde}$ |
| | 6 | 41.83±0.35$^{Abcd}$ | 41.26±0.61$^{Aab}$ | 28.74±0.07$^{Ab}$ | 28.40±0.13$^{Bb}$ | 147.92±1.35$^{Aabc}$ | 150.56±2.00$^{Acde}$ |
| | 9 | 42.59±2.70$^{Abcd}$ | 41.65±0.11$^{Aa}$ | 29.30±0.08$^{Aa}$ | 28.61±0.75$^{Ab}$ | 144.62±9.03$^{Abc}$ | 148.78±1.72$^{Ade}$ |
| 纤维素酶 CE | 25 | 42.20±1.31$^{Abcd}$ | 41.34±1.06$^{Aab}$ | 27.85±0.13$^{Ac}$ | 26.23±0.03$^{Bd}$ | 148.22±4.83$^{Aabc}$ | 154.12±3.98$^{Abcd}$ |
| | 50 | 40.79±1.87$^{Acd}$ | 40.35±1.43$^{Aabc}$ | 26.67±0.26$^{Ae}$ | 25.45±0.01$^{Be}$ | 155.55±7.60$^{Aab}$ | 159.35±5.60$^{Aab}$ |
| | 100 | 44.64±0.18$^{Ab}$ | 41.01±0.21$^{Babc}$ | 27.27±0.21$^{Ad}$ | 25.93±0.28$^{Bde}$ | 140.99±0.91$^{Bc}$ | 155.84±1.29$^{Abc}$ |
| 乳酸菌×纤维素酶 LA×CE | 3×25 | 42.72±0.85$^{Abcd}$ | 40.69±0.51$^{Babc}$ | 26.21±0.04$^{Af}$ | 25.64±0.08$^{Bdef}$ | 149.17±2.91$^{Babc}$ | 157.61±1.84$^{Aab}$ |
| | 6×50 | 43.32±0.24$^{Abc}$ | 39.68±0.14$^{Bc}$ | 25.89±0.14$^{Af}$ | 25.06±0.06$^{Bf}$ | 147.58±0.57$^{Babc}$ | 162.66±0.46$^{Aa}$ |
| | 9×100 | 40.03±1.81$^{Ad}$ | 39.94±0.06$^{Abc}$ | 26.17±0.16$^{Af}$ | 25.94±0.06$^{Bde}$ | 159.38±7.48$^{Aa}$ | 160.00±0.11$^{Aab}$ |
| *P* 值 *P*-value | 含水量 Moisture | <0.001 | | <0.001 | | <0.001 | |
| | 添加剂 Additive | <0.001 | | <0.001 | | <0.001 | |
| | 含水量×添加剂 Moisture×additive | <0.001 | | <0.001 | | 0.039 | |

2.4　发酵品质测定及感官评分

由表 4 可见，70%含水量青贮时，与 CK 组相比，所有添加剂组均显著降低了青贮料的 pH($P<0.05$)，25、50 mg/kg CE 组与各 LA×CE 组均显著降低了青贮料的 AN/TN($P<0.05$)，各 LA 组与 LA×CE 组均显著提高了青贮料的 WSC 含量($P<0.05$)。50 mg/kg CE 组青贮料的

pH 显著低于 25 和 100 mg/kg CE 组($P$＜0.05)。6×50 mg/kg LA×CE 组青贮料的 WSC 含量显著高于其他 LA×CE 组($P$＜0.05)。CK 组的感官得分最低，仅 7 分，为中等，表现为丁酸味颇重，叶子结构保持较差，带有褐色。各添加剂组的得分相似，为 13~14 分，评定等级为尚可，表现为酸味较强，呈淡黄色，但茎叶结构保持较差。

60%含水量青贮时，与 CK 组相比，所有添加剂组均显著降低了青贮料的 pH($P$＜0.05)，各 LA 组和 LA×CE 组均显著提高了青贮料的 WSC 含量($P$＜0.05)，各 LA×CE 组均显著降低了青贮料的 AN/TN($P$＜0.05)。50 mg/kg CE 组青贮料的 pH 显著低于 25 和 100 mg/kg CE 组($P$＜0.05)，6×50 mg/kg LA×CE 组青贮料的 AN/TN 显著低于其余 LA×CE 组($P$＜0.05)。CK 组的感官得分为 14，评定等级为尚可，表现为芳香味弱，略有白色，各添加剂组的得分在 17~18 分，为优等，表现为芳香味浓，色泽与原料相似，但茎叶结构保持较一般。

表 4　不同含水量及添加剂浓度对青贮苜蓿发酵品质的影响

Table 4　Effects of different moisture and additive concentration on fermentation quality of alfalfa silage

| 添加剂 Additive | 浓度 Concentration (mg/kg) | 感官评分 Point | | pH | | 氨态氮比总氮 AN/TN/% | | 可溶性糖 WSC/%DM | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 70%含水量 70% moisture | 60%含水量 60% moisture | 70%含水量 70% moisture | 60%含水量 60% moisture | 70%含水量 70% moisture | 60%含水量 60% moisture | 70%含水量 70% moisture | 60%含水量 60% moisture |
| 对照 CK | 0 | 7 | 14 | 6.89±0.13$^{Aa}$ | 6.19±0.04$^{Ba}$ | 4.18±0.43$^{Aab}$ | 4.03±0.11$^{Aa}$ | 0.96±0.06$^{Be}$ | 1.31±0.04$^{Ad}$ |
| 乳酸菌 LA | 3 | 13 | 17 | 5.45±0.16$^{Acd}$ | 5.07±0.06$^{Bb}$ | 3.75±0.72$^{Abc}$ | 3.80±0.21$^{Aabc}$ | 1.58±0.01$^{Ab}$ | 1.62±0.10$^{Ac}$ |
| | 6 | 13 | 17 | 5.25±0.14$^{Ad}$ | 4.93±0.01$^{Bbc}$ | 3.60±0.24$^{Abcd}$ | 3.52±0.10$^{Abcd}$ | 1.59±0.11$^{Ab}$ | 1.67±0.16$^{Ac}$ |
| | 9 | 13 | 17 | 5.60±0.16$^{Abc}$ | 4.98±0.05$^{Bbc}$ | 4.64±0.11$^{Aa}$ | 3.86±0.15$^{Bab}$ | 1.33±0.01$^{Bcd}$ | 1.94±0.01$^{Ab}$ |
| 纤维素酶 CE | 25 | 13 | 17 | 5.70±0.13$^{Ab}$ | 4.70±0.01$^{Bd}$ | 3.11±0.23$^{Bcde}$ | 3.81±0.21$^{Aabc}$ | 1.19±0.09$^{Ad}$ | 1.28±0.02$^{Ad}$ |
| | 50 | 13 | 17 | 5.40±0.02$^{Acd}$ | 4.26±0.01$^{Bf}$ | 2.88±0.43$^{Ade}$ | 3.30±0.21$^{Ad}$ | 1.13±0.03$^{Bde}$ | 1.42±0.07$^{Acd}$ |
| | 100 | 13 | 17 | 5.71±0.02$^{Ab}$ | 4.77±0.02$^{Bcd}$ | 3.50±0.24$^{Abcd}$ | 3.35±0.14$^{Acd}$ | 1.25±0.04$^{Ad}$ | 1.26±0.05$^{Ad}$ |
| 乳酸菌×纤维素酶 LA×CE | 3×25 | 13 | 18 | 4.47±0.06$^{Ae}$ | 4.54±0.21$^{Ade}$ | 3.04±0.01$^{Acde}$ | 2.77±0.13$^{Be}$ | 1.61±0.12$^{Bb}$ | 2.66±0.10$^{Aa}$ |
| | 6×50 | 14 | 18 | 4.26±0.04$^{Ae}$ | 4.28±0.10$^{Af}$ | 2.60±0.07$^{Ae}$ | 1.96±0.27$^{Bf}$ | 2.00±0.13$^{Ba}$ | 2.79±0.26$^{Aa}$ |
| | 9×100 | 14 | 18 | 5.39±0.03$^{Acd}$ | 4.40±0.18$^{Bef}$ | 3.19±0.19$^{Acde}$ | 2.84±0.35$^{Ae}$ | 1.48±0.18$^{Bbc}$ | 2.74±0.00$^{Aa}$ |
| $P$ 值 $P$-value | 含水量 Moisture | -- | | <0.001 | | 0.168 | | <0.001 | |
| | 添加剂 Additive | -- | | <0.001 | | <0.001 | | <0.001 | |
| | 含水量×添加剂 Moisture×additive | -- | | <0.001 | | 0.035 | | <0.001 | |

同一添加剂在不同含水量下青贮比较，除 3×25 和 6×50 mg/kg LA×CE 组青贮料的 pH 在不同含水量下表现为差异不显著($P$＞0.05)外，其余各组 60%含水量下青贮料的 pH 均显著

低于 70%含水量($P<0.05$)，并且 LA×CE 组相比 CK 组在 60%含水量下青贮料的 AN/TN 下降了 1.19%~2.07%，WSC 含量提高了 1.35%~1.48%；在 70%含水量下青贮料的 AN/TN 下降了 0.99%~1.58%，WSC 含量提高了 0.52%~1.04%，因此在 60%含水量下各添加剂组对 pH、AN/TN、WSC 含量的作用效果要优于 70%含水量。并且，含水量对青贮苜蓿 pH 和 WSC 含量存在显著影响($P<0.05$)，对 AN/TN 不存在显著影响($P>0.05$)，添加剂及含水量×添加剂对青贮苜蓿 pH、AN/TN 和 WSC 含量均存在显著影响($P<0.05$)。

## 3 讨 论

青贮原料的含水量大小在很大程度上影响着青贮效果，本试验选择 70%和 60% 2 个含水量下的苜蓿进行青贮，结果可以看出，低含水量下青贮的苜蓿相较于高含水量，CP 含量和 RFV 都有了明显的升高，EE 含量变化不大，而 CF、NDF、ADF 的含量都有明显的下降。这是因为高含水量利于腐败菌生长，同时产生的渗出液导致饲草的养分流失较多，影响了青贮效果[18-19]。但半干青贮中干物质含量较高，可溶性碳水化合物含量较高，能够增加发酵底物，得到较低的 pH 以及较高的乳酸含量[20]。60%含水量下原料中营养成分流失少，相比 70%含水量下干物质含量高，且未达到生理干旱，紫花苜蓿的营养被保存的较好，添加剂的使用对青贮的促进作用较为明显。Yang 等[21]对含水量分别为 85%、75%和 65%的多花黑麦草进行青贮，发现 65%含水量青贮时效果好，能使原料的 WSC 等养分浓缩，同时抑制酪酸菌、酵母菌等生长以及酶的作用和植物细胞的呼吸活动，使乳酸发酵占主导地位，相较于 75%和 85%含水量明显增加了 CP 含量，降低了 CF 含量和 AN/TN。但苜蓿青贮时含水量过低将会使介质中水的活性降低，自身的产酸菌处于生理干旱状态，青贮中酸度的积累会受到抑制，不利青贮发酵[22]。同样有研究表明，风干后的苜蓿营养损失约 30%，风干苜蓿直接青贮与使用添加剂青贮相比，其营养水平与发酵品质差异并不大[18,23]。

苜蓿由于可溶性碳水化合物含量较低，缓冲能值高，直接青贮较为困难，青贮过程中添加剂的使用可明显改善其发酵品质。乳酸菌是青贮成功的关键之一，数量应达到 $10^5$ CFU/g 才能使 pH 迅速降低，有害微生物活动受到抑制，减少营养物质的消耗、分解和流失，降低有毒物质如胺等的产生，保证青贮料的质量[8,24]。同时有报道表明，有氧环境下添加布氏乳杆菌可以改善青贮料的有氧稳定性从而抑制其好气变质[25-26]。本试验中乳酸菌的添加在降低 pH 上作用明显，可能是因为苜蓿原料上附着的乳酸菌数量得到提升，使乳酸发酵占主导地位，有害菌的生长受到抑制，促进有利发酵[12]，但 LA 组的 AN/TN 值与 CK 组相比降低不显著，这可能是因为乳酸发酵结束后纤维素酶继续作用，使蛋白质等营养物质降解加剧，饲料品质降低[27]。

纤维素酶可降解纤维素、半纤维素和木质素等动物不易消化的物质，并能水解细胞壁，释放内容物，增加乳酸的发酵底物，提高有机物消化率，改善饲草青贮品质[28-29]。本试验中苜蓿青贮添加纤维素酶可有效降低其 ADF 含量，增加 ADF 的可消化性，这和 Zhang 等[30]的研究结果一致，但 Sun 等[31]在胡枝子和驼绒藜中添加纤维素酶，发现相比对照青贮料的 ADF 含量没有降低，这可能与植物种类、生理状态、纤维素酶组成、青贮发酵条件等多方面影响有关[32]。李静等[33]在稻草青贮中添加乳酸菌和纤维素酶，发现纤维素酶对细胞壁的分解作用有限，发酵品质上与乳酸菌处理的互作作用较小，这就与稻草的木质化程度和水分含量上存在差异有关。

本试验中乳酸菌和纤维素酶共同添加时，降低了 AN/TN，这与侯美玲等[34]的研究结果一致。同时 NDF、ADF 含量相比 CK 组均显著降低，RFV 提高，这与 Ni 等[35]的研究结果一致。徐然等[36]以光叶紫花苕为原料青贮，发现乳酸菌和纤维素酶共同添加时，青贮料 CP 含量上升，NDF 和 ADF 含量下降，但 pH 与 CK 组差异不显著，这与本试验结果不同，可能是由于乳酸菌和纤维素酶的种类和用量不同。本试验中 2 种添加剂复合添加与使用单一添加剂相比，发酵品质明显改善，但 CP 含量升高和 NDF 含量降低幅度不大，可能是 2 种添加剂间也存在一定的拮抗作用。6×50 mg/kg LA×CE 组的青贮效果最佳，而同时添加高含量的乳酸菌和纤维素酶后，发现相较低含量添加其 pH、AN/TN 明显升高，WSC 含量明显下降，发酵品质降低，这可能是因为 2 种添加剂用量增加，高浓度的乳酸菌使得青贮料的 pH 过低，从而使得纤维素酶的活性受到抑制，拮抗作用更加明显[37-38]。Tian 等[39]将乳酸菌和纤维素酶复合添加于羊草青贮料中，发现其相比单一添加乳酸菌或纤维素酶，不能提高 CP 和 WSC 含量，降低 AN/TN，可能也是因为存在此类作用。本次试验未进行乳酸、乙酸、丁酸等指标的测定，结合有机酸含量的测定将更加综合地反映苜蓿的青贮品质。也可设置多个干燥时间，测出苜蓿青贮的最佳含水量，能够获得最适的青贮条件，这些需要进一步的研究。

## 4 结 论

① 苜蓿青贮时添加乳酸菌能显著提高青贮料的 WSC 含量，显著降低 pH，并且以 6 mg/kg 浓度最优。苜蓿青贮时添加纤维素酶能显著降低青贮料的 ADF 和 pH，并且以 50 mg/kg 浓度最优。

② 乳酸菌和纤维素酶混合添加时，相比单独使用一种添加剂提高了青贮料的 WSC 含量，降低了青贮料的 CF、ADF 含量和 pH，并且以 6×50 mg/kg 浓度最优。

③ 相同添加剂下 60%含水量青贮料的 CP 含量均高于 70%含水量，并且 60%含水量青贮料的 CF、ADF 含量和 pH 低于 70%含水量。因此 60%含水量下青贮效果优于 70%含水量。

参考文献：

[1] 孙全友.紫花苜蓿的营养价值及其在肉兔生产中的应用进展[J].中国养兔,2012(7):19–20.
[2] 李彦品,杨海明,杨芷,等.紫花苜蓿的营养价值及其在畜禽生产中的应用[J].饲料研究,2015(9):14–18.
[3] 杨春,王明利.我国的苜蓿生产与奶业发展——草畜结合是推进发展的关键[J].中国畜牧杂志,2011,47(16):14–17,21.
[4] SARICICEK B Z,KILIC U.Effect of different additives on the nutrient composition,*in vitro* gas production and silage quality of alfalfa silage[J].Asian Journal of Animal and Veterinary Advances,2011,6(6):618–626.
[5] 单贵莲,初晓辉,陈功,等.紫花苜蓿青贮技术及其应用探讨[J].草业与畜牧,2011(7):21–25.
[6] TABACCO E,PIANO S,REVELLO-CHION A,et al.Effect of *Lactobacillus buchneri* LN4637 and *Lactobacillus buchneri* LN40177 on the aerobic stability,fermentation products,and microbial populations of corn silage under farm conditions.[J].Journal of Dairy Science,2011,94 (11):5589–5598.
[7] 张庆,张万军,田吉鹏,等.乳酸菌青贮技术研究进展[J].草业科学,2014,31(2):328–333.
[8] 刘婷,王腾飞,罗宽,等.苜蓿青贮添加剂研究进展[J].饲料研究,2016(19):12–14,22.
[9] 刘振宇,玉柱,智建飞,等.苜蓿青贮研究进展[J].河北农业科学,2013,17(6):62–65,83.
[10] 舒思敏,杨春华,唐智松,等.添加绿汁发酵液对不同含水量扁穗牛鞭草青贮料品质的影响[J].草食家畜,2011(4):41–43.
[11] 张英,周汉林,刘国道,等.不同含水量对不同生长时期的王草青贮品质的影响[J].家畜生态学报,2013,34(7):39–43.
[12] 张养东,杨军香,王宗伟,等.青贮饲料理化品质评定研究进展[J].中国畜牧杂志,2016,52(12):37–42.
[13] 李改英,陈玉霞,廉红霞,等.苜蓿青贮品质评定指标体系及测定方法的概述[J].草业科学,2010,27(8):151–154.
[14] 张丽英.饲料分析及饲料质量检测技术[M].3 版.北京:中国农业大学出版社,2007:49–75.
[15] 闫晓红,邢旗,王君芳,等.锡林郭勒草原不同地区天然打草场营养价值评价分析[J].草原与草业,2015,27(4):40–44.
[16] WEATHERBURN M W.Phenol-hypochlorite reaction for determination of

ammonia[J].Analytical Chemistry,1967,39(8):971–974.

[17] OWENS V N,ALBRECHT K A,MUCK R E,et al.Protein degradation and fermentation characteristics of red clover and alfalfa silage harvested with varying levels of total nonstructural carbohydrates[J].Crop Science,1999,39(6):1873–1880.

[18] 万里强,李向林,何峰.添加乳酸菌和纤维素酶对苜蓿青贮品质的影响[J].草业科学,2011,28(7):1379–1383.

[19] 李平,白史且,鄢家俊,等.添加剂及含水量对老芒麦青贮品质的影响[J].草地学报,2013,21(6):1176–1181.

[20] 张学功,韩文祥.紫花苜蓿半干青贮技术[J].养殖与饲料,2010(8):78–80.

[21] YANG X L,LI J L,YU Z,et al.Influence of moisture content on the silage quality of *Lolium multiflorum*[J].Journal of Animal and Veterinary Advances,2014,13(12):702–705.

[22] 张金霞,乔红霞,刘雨田.水分和添加剂对紫花苜蓿青贮品质的影响[J].草业科学,2014,31(4):766–770.

[23] 张新平,万里强,李向林,等.添加乳酸菌和纤维素酶对苜蓿青贮品质的影响(简报)[J].草业学报,2007,16(3):139–143.

[24] 李光耀,陈建华,张力君.添加剂在苜蓿青贮中的应用进展[J].饲料研究,2014(7):14–16.

[25] HEINL S,WIBBERG D,EIKMEYER F,et al.Insights into the completely annotated genome of *Lactobacillus buchneri* CD034,a strain isolated from stable grass silage[J].Journal of Biotechnology,2012,161(2):153–166.

[26] WEINBERG Z G,ASHBELL G,HEN Y,et al.The effect of applying lactic acid bacteria at ensiling on the aerobic stability of silages[J].Journal of Applied Bacteriology,1993,75(6):512–518.

[27] 席兴军,韩鲁佳,原慎一郎,等.添加乳酸菌和纤维素酶对玉米秸秆青贮饲料品质的影响[J].中国农业大学学报,2003,8(2):21–24.

[28] 张英,周汉林,刘国道,等.绿汁发酵液与纤维素酶对王草青贮品质的影响[J].草业科学,2013,30(10):1640–1647.

[29] AL-GHAZZEWI F H,TESTER R F.Efficacy of cellulase and mannanase hydrolysates of konjac glucomannan to promote the growth of lactic acid bacteria[J].Journal of the Science of Food and Agriculture,2012,92(11):2394–2396.

[30] ZHANG J G,LIU Q H,HATTORI I,et al.Applying cellulases to improve the fermentation quality and nutritive value of roll bale silage made with rice straw[C]//Proceedings of International Conference on New Technology of Agricultural Engineering.Zibo,China:IEEE,2011:972–974.

[31] SUN Q Z,GAO F Q,YU Z,et al.Fermentation quality and chemical composition of shrub silage treated with lactic acid bacteria inoculants and cellulase additives[J].Animal Science Journal,2012,83(4):305–309.

[32] 李龙兴,王应芬,张明均,等.添加剂在青贮饲料中的利用与研究[J].畜牧与饲料科学,2015,36(4):60–63.

[33] 李静,高兰阳,沈益新.乳酸菌和纤维素酶对稻草青贮品质的影响[J].南京农业大学学报,2008,31(4):86–90.

[34] 侯美玲,格根图,孙林,等.甲酸、纤维素酶、乳酸菌剂对典型草原天然牧草青贮品质的影响[J].动物营养学报,2015,27(9):2977–2986.

[35] NI K K,WANG Y P,PANG H L,et al.Effect of cellulase and lactic acid bacteria on fermentation quality and chemical composition of wheat straw silage[J].American Journal of Plant Sciences,2014,5(13):1877–1884.

[36] 徐然,陈鹏飞,白史且,等.乳酸菌和纤维素酶对光叶紫花苕青贮发酵品质的影响[J].草地学报,2014,22(2):420–425.

[37] 丁武蓉,杨富裕,郭旭生,等.添加乳酸菌和纤维素酶对二色胡枝子青贮品质的影响[J].西北农林科技大学学报:自然科学版,2008,36(4):8–14,21.

[38] SUN Z H,LIU S M,TAYO G O,et al.Effects of cellulase or lactic acid bacteria on silage fermentation and *in vitro* gas production of several morphological fractions of maize stover[J].Animal Feed Science and Technology,2009,152(3/4):219–231.

[39] TIAN J P,YU Y D,YU Z,et al.Effects of lactic acid bacteria inoculants and cellulase on fermentation quality and *in vitro* digestibility of *Leymus chinensis* silage[J].Grassland Science,2014,60(4):199–205.

## Effects of Lactic Acid Bacteria and Cellulase on Alfalfa Silage Quality with Different Moisture

ZHONG Shu ZHANG Xiaona YANG Yungui* YANG Yuxin*

(*College of Animals Science and Technology, Northwest A&F University, Yangling* 712100, *China*)

Abstract: To solve the difficulty of alfalfa silage and improve the quality of silage, the study was conducted to investigate effects of moisture and additive on alfalfa silage quality. Used the two factor (moisture×additive) completely random design, the moisture was 70% and 60%, respectively; the additive divided into 4 groups, control group without additives, and other three group contained three levels which were the lactic acid bacteria group (LA group, 3, 6 and 9 mg/kg), cellulase group (CE group, 25, 50 and 100 mg/kg) and mixture of lactic acid bacteria and cellulose group (LA×CE group, 3×25, 6×50 and 9×100 mg/kg), each group contained 3 replicates, altogether 20 groups. After silage for 90 days, the content of crude protein (CP), crude fiber (CF), neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF) and water soluble carbohydrate (WSC) and pH, ammonia nitrogen/total nitrogen (AN/TN) were determined. The results showed as follows: compared with the control group, the silage WSC content in all LA groups was significantly increased ($P<0.05$), and the silage pH was significantly decreased ($P<0.05$); the content of CP and WSC of silage in 6 mg/kg LA group was higher than that in 3 and 9 mg/kg LA groups, and the pH was lower than that in 3 and 9 mg/kg LA groups. Compared with the control group, the ADF content and pH of silage in all CE groups was significantly decreased ($P<0.05$), and the ADF content and pH of silage in 50 mg/kg CE group was lower than those in 25 and 100 mg/kg CE groups. The CF and ADF content and pH of silage in all LA×CE groups most lower than those in all LA and CE groups, and the WSC content was higher than that in all LA and CE groups, the CF, ADF and WSC content and pH of silage in 6×50 mg/kg LA×CE group had significant difference compared with all LA and CE groups ($P<0.05$). The silage CP content in 70% moisture under the same additive were significant lower than that in 60% moisture except 9 mg/kg LA group and 100 mg/kg CE group ($P<0.05$); the silage CF and ADF content in 70% moisture under the same additive were significant lower than those in 60% moisture ($P<0.05$). In conclusion, lactic acid bacteria, cellulase and their mixture can apparently improve the quality of alfalfa silage, and the supplementation of 6×50 mg/kg lactic acid bacteria and cellulase has the best effects, meanwhile, the silage effect of 60% moisture is superior to 70% moisture.

Key words: alfalfa silage; moisture; lactic acid bacteria; cellulase

---

*Corresponding authors: YANG Yungui, associate professor, E-mail: yungui@nwsuaf.edu.cn; YANG Yuxin, associate professor, E-mail: yangyuxin2002@126.com （责任编辑　武海龙）